

# BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 102 34 404.3

**Anmeldetag:** 29. Juli 2002

**Anmelder/Inhaber:** LEICA Microsystems Heidelberg  
GmbH, Mannheim/DE

**Bezeichnung:** Verfahren, Anordnung und Software zur  
Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops

**IPC:** G 02 B 21/00

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 03. April 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**

Im Auftrag

Faust

**Verfahren, Anordnung und Software zur Überwachung und Kontrolle  
eines Mikroskops**

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops.

- 5    Ferner betrifft die Erfindung eine Anordnung zur Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops wobei das Mikroskop eine Detektoreinheit, mindestens einen Inputport für eine Stellgröße, und ein dem Mikroskop zugeordnetes Rechnersystem aufweist.

- 10    Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde ein Verfahren zu schaffen, mit dem der Informationsinhalt während der Bildaufnahme konstant gehalten werden kann.

Die objektive Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das die Merkmale des Patentanspruchs 1 aufweist.

- 15    Ferner liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde eine Anordnung zur Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops zu schaffen, bei der der Informationsinhalt eines Bildes weitestgehend konstant gehalten ist.

Die objektive Aufgabe wird durch eine Anordnung gelöst, die die Merkmale des Patentanspruchs 6 aufweist.

- 20    Besonders vorteilhaft für das Verfahren ist es, wenn anfänglich der Informationsinhalt mindestens eines Bildes ermittelt wird. Es erfolgt eine automatische Analyse des Informationsinhalts mit einem vorgegebenen Sollinformationsinhalt und einer vorgegebenen Variation des Informationsinhalts als Toleranzmaß. Aus der Analyse wird eine Stellgröße ermittelt, die den Informationsinhalt eines Bildes auf einem vorbestimmten  
25    Sollwert bringt. Die Stellgröße wird an mindestens einen Aktor des Mikroskops übergeben. Ist das Erreichen des Sollwerts nicht mehr möglich, so wird ein

Warnsignal gegeben. Variationen des Informationsinhalts außerhalb des Toleranzmaßes führen dazu, dass der vorbestimmte Sollwert nicht mehr erreicht werden kann. Je nach Ergebnis der Analyse des Informationsinhalts werden mehrere unterschiedliche Stellgrößen bestimmt. Das Rechnersystem ermittelt aus den Stellgrößen welche Aktoren des Mikroskops angesteuert werden müssen, um den vorgegebenen Sollwert zu erreichen. Ferner ist von Vorteil, dass ein Schalter vorgesehen ist, mit dem ein Benutzer die automatische Überwachung des Mikroskops initiiert.

Weitere vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung können den Unteransprüchen entnommen werden.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

- |        |  |
|--------|--|
| Fig. 1 | eine schematische Darstellung eines Scanmikroskops;  |
| Fig. 2 | ein Blockschaltbild, das unter Verwendung eines herkömmlichen Mikroskops das erfindungsgemäße Verfahren realisiert;  |
| Fig. 3 | eine Auswertung des Informationsinhalts eines Bildes hinsichtlich der sich über die Zeit ändernde Intensität des von einer Probe ausgehenden Detektionslichts;   |
| Fig. 4 | eine beispielhafte Auswertung des Informationsinhaltes eines Bildes über die Berechnung eines Histogramms, das Häufigkeit der Intensitäten des von einer Probe ausgehenden Detektionslichts zu einem festen Zeitpunkt darstellt; |
| Fig. 5 | die beispielhafte zeitliche Veränderung des Histogramms;   |
| und    |  |
| Fig. 6 | die beispielhafte zeitliche Veränderung des Histogramms, bei dem Teil der Probe aus dem Bildframe verschwindet.  |

In Fig. 1 ist das Ausführungsbeispiel eines konfokalen Scanmikroskops 100 schematisch gezeigt. Dies soll jedoch nicht als Beschränkung der Erfindung aufgefasst werden. Es ist dem Fachmann hinlänglich klar, dass die Erfindung auch mit einem konventionellen Mikroskop 100 realisiert werden kann. Bei der  
5 Verwendung eines herkömmlichen Mikroskops 102 werden die Bilder mit einer Kamera 35, die als Videokamera oder CCD-Kamera ausgebildet ist, aufgezeichnet.

Der von mindestens einem Beleuchtungssystem 1 kommende Beleuchtungslichtstrahl 3 wird von einem Strahlteiler oder einem geeigneten  
10 Umlenkmittel 5 zu einem Scanmodul 7 geleitet. Bevor der Beleuchtungslichtstrahl 3 auf das Umlenkmittel 5 trifft, passiert dieser ein Beleuchtungspinhole 6. Das Scanmodul 7 umfasst einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 9, der den Beleuchtungslichtstrahl 3 durch eine Scanoptik 12 und eine Mikroskoptik 13 hindurch über bzw. durch ein Objekt  
15 15 führt. Der Beleuchtungslichtstrahl 3 wird bei nicht transparenten Objekten 15 über die Objektoberfläche geführt. Bei biologischen Objekten 15 (Präparaten) oder transparenten Objekten kann der Beleuchtungslichtstrahl 3 auch durch das Objekt 15 geführt werden. Zu diesen Zwecken werden nichtleuchtende Präparate ggf. mit einem geeigneten Farbstoff präpariert  
20 (nicht dargestellt, da etablierter Stand der Technik). Die in dem Objekt vorhandenen Farbstoffe werden durch den Beleuchtungslichtstrahl 3 angeregt und senden Licht in einem ihnen eigenen charakteristischen Bereich des Spektrums aus. Dieses vom Objekt 15 ausgehende Licht definiert einen Detektionslichtstrahl 17. Dieser gelangt durch die Mikroskoptik 13, die  
25 Scanoptik 12 und über das Scanmodul 7 zum Umlenkmittel 5, passiert dieses und gelangt über ein Detektionspinhole 18 auf mindestens eine Detektoreinheit 19. Die Detektoreinheit 19 kann und ist im vorliegenden Ausführungsbeispiel als Photomultiplier ausgeführt. Es ist dem Fachmann klar, dass auch andere Detektionskomponenten, wie z.B. Dioden,  
30 Diodenarrays, Photomultiplierarrays, CCD Chips oder CMOS Bildsensoren eingesetzt werden können. Der vom Objekt 15 ausgehende bzw. definierte Detektionslichtstrahl 17 ist in Fig. 1 als gestrichelte Linie dargestellt. In der Detektoreinheit 19 werden elektrische, zur Leistung des vom Objekt 15

ausgehenden Lichtes proportionale, Detektionssignale erzeugt. Da, wie bereits oben erwähnt, vom Objekt 15 Licht nicht nur einer Wellenlänge ausgesandt wird, ist es sinnvoll vor der Detektoreinheit 19 ein Selektionsmittel 21 für das von der Probe ausgehende Spektrum einzufügen. Die vom der  
5 Detektoreinheit 19 erzeugten Daten bzw. elektrischen Signale werden an ein Rechnersystem 23 weitergegeben. Dem Rechnersystem 23 ist mindestens ein Peripheriegerät 27 zugeordnet. Das Peripheriegerät kann z.B. ein Display sein, auf dem der Benutzer Hinweise zur Einstellung des Scanmikroskops erhält oder den aktuellen Setup und auch die Bilddaten in graphischer Form  
10 entnehmen kann. Ferner ist mit dem Rechnersystem 23 ein Eingabemittel zugeordnet, das z.B. aus einer Tastatur 28, einer Einstellvorrichtung 29 für die Komponenten des Mikroskopsystems und einer Maus 30 besteht.

Fig. 2 zeigt ein Blockschaltbild, das unter Verwendung eines herkömmlichen Mikroskops 102 das erfindungsgemäße Verfahren realisiert. Das Mikroskop  
15 102 ist lediglich schematisch dargestellt, da der Aufbau eines Mikroskops einen Fachmann hinlänglich bekannt ist. Das Mikroskop 102 besitzt eine Kamera 35 bzw. eine Detektoreinheit, mit der der von einem Objekt oder einer Probe kommende Informationsinhalt detektiert wird. Die von der Kamera 35 oder der Detektoreinheit ermitteltem Informationsinhalte werden an das  
20 Rechnersystem 23 weitergeleitet, dem ein Display 36 zugeordnet ist. Auf dem Display 36 werden für einen Benutzer die Informationsinhalte und auch die verschiedenen Einstellmöglichkeiten für das Mikroskop 102 dargestellt. Das Mikroskop 102 besitzt mindestens eine Detektoreinheit, mindestens einen Inputport 37 für eine Stellgröße. Die Stellgröße wird von einer dem  
25 Rechnersystem 23 zugeordneten Untereinheit 40 ermittelt die zusammen mit der Detektoreinheit und dem Rechnersystem 23 den Informationsinhalt mindestens eines Bildes ermittelt. Die Untereinheit 40 des Rechnersystems 23 analysiert den Informationsinhalt mit einem vorgegebenen Sollinformationsinhalt und einer vorgegebenen Variation des  
30 Informationsinhalts als Toleranzmaß bzw. Toleranzband. Aus der Analyse wird eine Stellgröße bestimmt die auf mindestens einen dem Mikroskop 102 zugeordneten Aktor 38 wirkt. Der oder die Aktoren 38 werden derart verstellt, dass die zugewiesene(n) Stellgröße(n) eine Änderung des Informationsinhalts

des Bildes erzeugt, mit dem Ziel das Toleranzmaß nicht zu verlassen. Ein Mittel 39 zum Ausgeben eines Warnsignals ist dem Mikroskop 102 zugeordnet, dass dem Benutzer ein Warnsignal zur Verfügung stellt, falls die Variationen des Informationsinhalts außerhalb des Toleranzmaßes bzw.  
5 Toleranzbandes liegen. Das Warnsignal kann akustisch oder optisch erfolgen. Dem Benutzer kann ebenfalls eine Meldung auf dem Display 36 dargestellt werden, der er den Grund für die Warnung entnehmen kann. Bei mehreren dem Mikroskop 102 zugeordneten Aktoren 38 empfängt jeder der Aktoren 38 eine andere Stellgröße. Das Rechnersystem 23 ermittelt dabei welche  
10 Stellgröße verändert werden soll, um den Informationsinhalt eines Bildes an den vorgegebenen Sollinformationsinhalt anzupassen.

Der Benutzer hat es in der Hand das erfindungsgemäße Verfahren zu starten. Hierzu ist dem Benutzer ein Schalter 41 zur Verfügung gestellt. Der Schalter kann z.B. über die Tastatur 28, die Einstellvorrichtung 29 für die Komponenten  
15 des Mikroskopsystems oder des Mikroskops 102 oder der Maus 30 betätigt werden. Der Schalter 41 kann dem Benutzer auch als Klick-Button auf dem Display 36 dargestellt werden. In Fig. 3 ist eine Auswertung des Informationsinhaltes eines Bildes hinsichtlich der sich über die Zeit ändernden Intensität des von einer Probe 44 ausgehenden Detektionslichts. In der Probe  
20 ist beispielhaft eine erste und eine zweite interessierende Struktur 45 und 46 vorgesehen. Neben der schematischen Darstellung der Probe 44 ist die Intensität  $I$  des von der Probe 44 ausgehenden Detektionslichts als Funktion der Zeit  $t$  aufgetragen. Auf der Abszisse 50 ist die Zeit  $t$  aufgetragen. Auf der Ordinate 51 ist die Intensität  $I$  aufgetragen. Nach dem Betätigen des Schalters  
25 41 werden nach und nach mehre Bilder der Probe 44 aufgezeichnet. Für jedes Bild wird die mittlere Intensität bestimmt. In Fig. 3 ist sind die Messwerte durch eine erste Kurve 52 dargestellt, wobei die Intensität  $I$  in der Regel mit der Zeit abnimmt (z.B. Bleichen der Probe). Der Sollinformationsinhalt wird durch eine zweite Kurve 53 bestimmt. In vorliegenden Fall müssen die Aktoren 38 des  
30 Mikroskops 102 derart verstellt werden, dass die erste Kurve 52 der zweiten Kurve 53 angeglichen wird. Die kann zum einen durch eine Erhöhung der Intensität und zum anderen durch eine Erhöhung der Verstärkung erfolgen. Welche Stellgrößen bzw. Aktoren 38 verändert werden, ist im Einzelfall von

Rechnersystem 23 zu entscheiden. Hierzu sind auch die Eigenschaften der zu untersuchenden Probe 44 zu berücksichtigen. So kann bei leblosen, nicht bleichenden Proben die Intensität des Beleuchtungslichts erhöht werden. Bei biologischen Proben ist es notwendig, ein Gleichgewicht zwischen einer  
5 Erhöhung der Lichtintensität und der Verstärkung zu wählen. Ist die Lichtintensität zu hoch, dann kann es zu Schädigungen der Probe kommen. Wählt man die Verstärkung zu hoch, ist somit auch das Rauschen verstärkt.

Fig. 4 zeigt eine beispielhafte Auswertung des Informationsinhaltes eines Bildes über die Technik des Histogramms, das die Häufigkeit der Intensitäten  
10 des von einer Probe ausgehenden Detektionslichts zu einem festen Zeitpunkt darstellt. Wie bereit oben erwähnt erfolgt nach der Betätigung des Schalters durch den Benutzer die Berechnung eines Histogramms 42 des Bildes. Bei Farbbildern wird ggf. ein Farbhistogramm ermittelt und dargestellt. Auf der Abszisse 50 ist die Intensität des Pixels oder Detektionsbereichs aufgetragen,  
15 mit dem die Kamera 35 die Bilder der Probe 44 aufnimmt. Auf der Ordinate 51 ist die normierte Häufigkeit der gemessenen Intensitäten aufgetragen. Dabei ist zu Bemerken, dass bei der vorliegenden Probe 44 die erste interessierende Struktur 45 heller leuchtet als die zweite interessierende Struktur 46, das Histogramm zeigt unterschiedliche Gipfel. In einem nächsten Schritt werden  
20 die Moden bzw. Gipfel des Histogramms 42 bestimmt. Dies kann nach unterschiedlichen Verfahren gemäß dem Stand der Technik erfolgen. Beispiele sind Fits von Gauss'schen Glockenkurven, das Verfahren von Otsu oder Entropiebasierte Thresholdbestimmung in Verbindung mit rekursiver Bestimmung der Modellordnung. Im vorliegenden Beispiel weist das  
25 Histogramm 42 eine erste, zweite und dritte Mode 42a, 42b, 42c auf. Die Moden 42a, 42b, 42c des Histogramms 42 werden entsprechend ausgewertet. Zunächst werden die lokale mittlere Intensität der einzelnen Moden 42a, 42b, 42c bestimmt und daraus deren lokale Intensitätsvarianz ermittelt. Es ist offensichtlich, dass jede der Moden 42a, 42b, 42c eine Zielgröße bestimmt  
30 die konstant zu halten ist. Im System werden ferner Toleranzbänder 48 festgelegt, die die einzelnen Moden 42a, 42b, 42c nicht verlassen sollen, wobei die konkrete Ableitung der Toleranzbänder 48 aus denn

Kundenwünschen nicht näher spezifiziert ist. Die Toleranzbänder 48 können z.B. optional als Systemvorgabe bestimmt sein.

- Fig. 5 zeigt die zeitliche Veränderung des Histogramms 42. Im laufenden Betrieb wird für jedes erfasste Bild ein Histogramm berechnet. Gleichfalls werden die Moden des Histogramms berechnet. Man erhält also eine den aufgenommenen Bildern entsprechende Anzahl an Histogrammen. Die aufgenommenen Histogramme werden mit dem Histogramm für das ursprüngliche Bild verglichen, das zum Zeitpunkt  $t_0$  aufgenommen wurde. Im vorliegenden Fall werden die zweite 42b und die dritte Mode 42c schwächer.
- 5 Das Maximum der zweiten und der dritten Mode 42b und 42c bewegt sich immer noch innerhalb des Toleranzbandes 48. Wenn sich, wie in diesem Fall beschrieben, die zweite und die dritte Mode 42b und 42c gemeinsam zu schwächeren Intensitäten bewegen, haben geeignete Steuerkommandos zu erfolgen. In diesem Fall ist die beste Erklärung für das Phänomen
- 10 Bleicheffekte. Diesem kann man gegensteuern, indem man die Verstärkung Photomultiplier der Detektoreinheit 19 erhöht. Ein Erniedrigen der Verstärkung der Detektoreinheit 19 ist dann vorgesehen, wenn z.B. die einzelnen Moden an Intensität zunehmen. Eine andere Möglichkeit ist, dass man bei abnehmenden Moden die Intensität des Beleuchtungslichts erhöht. Bei einem
- 15 Laserscanmikroskop, kann man einen AOTF (Acusto optical tuneable filter) derart einstellen, dass mehr Laserlicht auf die zu untersuchende Probe 44 fällt.
- 20

- Fig. 6 beschreibt die zeitliche Veränderung des Histogramms 42, bei dem ein Teil der Probe 44 aus dem vom der Anordnung aufgenommenen Bildframe 49 verschwindet. Von der ersten interessierenden Struktur 45 wird die dritte Mode 42c erzeugt. In Laufe der Zeit (von  $t_0$  bis  $t_n$ ) wandert die erste interessierende Struktur 45 aus dem Bildframe 49. Die fast aus dem Bildframe 49 gewanderte erste Struktur 45 ist gestrichelt dargestellt. Hier verändert sich das Signal der dritten Mode 42c anders als die zweite Mode 42b. Das
- 25
- 30 Programm bzw. das Verfahren kann nicht mehr nachregeln, so dass für den Benutzer durch das Mittel 39 ein Warnsignal ausgegeben wird. Das Programm ist zu beenden. Ebenso könnte es sein, dass ein Toleranzband 48 überschritten wird, was beim Gegensteuern durch das Programm lediglich zu



einem erhöhtem Rauschen führen würde. Das Programm gilt es hier ebenfalls zu beenden.

- Die Erfindung wurde in bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und
- 5 Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

**Bezugszeichenliste:**

	1	Beleuchtungssystem
	3	Beleuchtungslichtstrahl
	5	Umlenkmittel
5	6	Beleuchtungspinhole
	7	Scanmodul
	9	Scanspiegel
	12	Scanoptik
	13	Mikroskopoptik
10	15	Objekt
	17	Detektionslichtstrahl
	18	Detektionspinhole
	19	Detektoreinheit
	20	SP Modul
15	21	Selektionsmittel
	23	Rechnersystem
	27	Peripheriegerät
	28	Tastatur
	29	Einstellvorrichtung
20	30	Maus
	35	Kamera
	36	Display
	37	Inputport
	38	Aktor
25	39	Mittel zum Ausgeben eines Warnsignals

	40	Untereinheit
	41	Schalter
	42	Histogramm
	42a	erste Mode
5	42b	zweite Mode
	42c	dritte Mode
	44	Probe
	45	erste interessierende Struktur
	46	zweite interessierende Struktur
10	48	Toleranzband
	49	Bildframe
	50	Abszisse
	51	Ordinate
	52	erste Kurve
15	53	zweite Kurve
	100	Scanmikroskop
	102	Mikroskop

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops (100, 102) gekennzeichnet durch die folgenden Schritte:
  - a) Ermitteln des Informationsinhaltes mindestens eines Bildes;
  - 5 b) Analyse des Informationsinhalts mit einem vorgegebenen Sollinformationsinhalt und einer vorgegebenen Variation des Informationsinhalts als Toleranzmaß;
  - c) Bestimmen einer Stellgröße aus der Analyse des Informationsinhalts mit einem vorbestimmten Sollwert zur Beeinflussung des Informationsinhalts;
  - 10 d) Übergeben der Stellgröße an mindestens einen Aktor des Mikroskops; und
  - e) Ausgeben eines Warnsignals bei Variationen des Informationsinhalts außerhalb des Toleranzmaßes.
- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass je Ergebnis der Analyse des Informationsinhalts mehrere unterschiedliche Stellgrößen und Aktoren (38) des Mikroskops (100, 102) bestimmt und angesteuert werden.
- 20 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren zur Überwachung und Kontrolle des Mikroskops (100, 102) durch einen Benutzer initiiert wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Verfahren durch den Benutzer durch einen Schalter (41) gestartet wird.

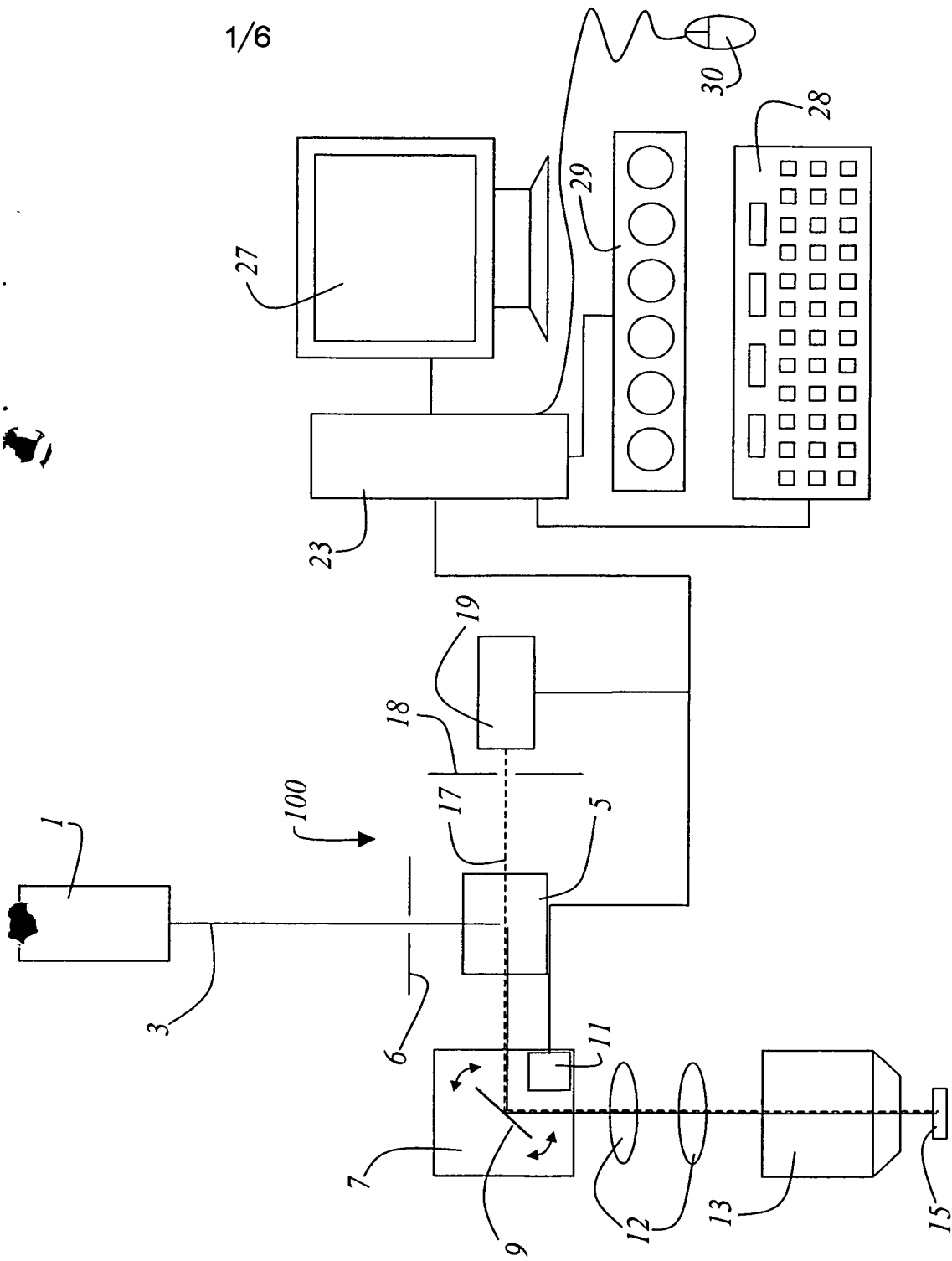
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop als Scanmikroskop (102) ausgebildet ist.
6. Anordnung zur Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops (100, 102) wobei das Mikroskop (100, 102) eine Detektoreinheit (19), mindestens  
5 einen Inputport (37) für eine Stellgröße, und ein dem Mikroskop (100, 102) zugeordnetes Rechnersystem (23) aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass mit der Detektoreinheit und dem Rechnersystem der Informationsinhalt mindestens eines Bildes ermittelbar ist, dass das Rechnersystem (23) den Informationsinhalt mit einem vorgegebenen Sollinformationsinhalt und einer  
10 vorgegebenen Variation des Informationsinhalts als Toleranzmaß analysiert und daraus eine Stellgröße bestimmt, und dass dem Mikroskop (100, 102) mindestens ein Aktor (38) zugeordnet ist, der die dem Aktor (38) zugewiesene Stellgröße in eine Änderung des Informationsinhalts des Bildes innerhalb eines Toleanzmaßes umsetzt.
7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass ein  
15 Mittel (39) zum Ausgeben eines Warnsignals vorgesehen ist, dass dem Benutzer ein Warnsignal zur Verfügung stellt, falls die Variationen des Informationsinhalts außerhalb des Toleranzmaßes liegen.
8. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass dem  
20 Mikroskop (100, 102) mehrere Aktoren (38) zugeordnet sind, von denen jeder eine andere Stellgröße empfängt.
9. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass ein Schalter (41) vorgesehen ist, mit dem ein Benutzer die automatische Überwachung des Mikroskops (100, 102) initiiert.
10. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der  
25 Schalter (41) als ein Klick-Button auf einem dem Rechnersystem zugeordneten Display ausgebildet ist.
11. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Mikroskop als Scanmikroskop ausgebildet ist.

12. Software auf einem Datenträger, dadurch gekennzeichnet, dass ein mit einem Mikroskop verbundenes Rechnersystem (23) ein Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5 ausführt.

### Zusammenfassung

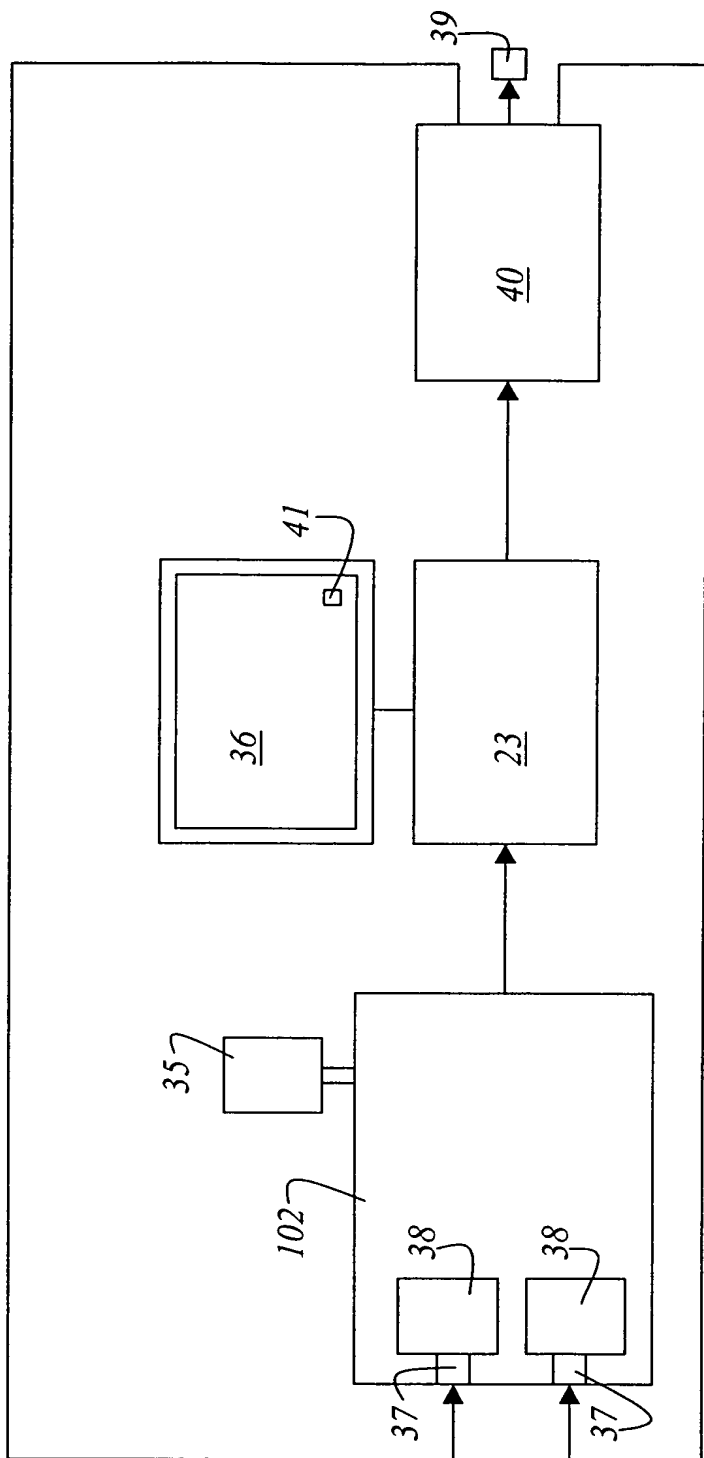
Ein Verfahren und eine Anordnung zur Überwachung und Kontrolle eines Mikroskops (100, 102) ist offenbart. Dem Benutzer wird ein Schalter (41) zur  
5 Verfügung gestellt, mit dem er das Verfahren anstoßen kann. Es ist eine Detektoreinheit (19) und ein Rechnersystem (23) vorgesehen, mit denen der Informationsinhalt mindestens eines Bildes ermittelbar ist. Das Rechnersystem (23) analysiert den Informationsinhalt eines Bildes und ermittelt daraus eine Stellgröße, die an mindestens einen Aktor (38) des  
10 Mikroskops (100, 102) geleitet wird.

Fig. 2

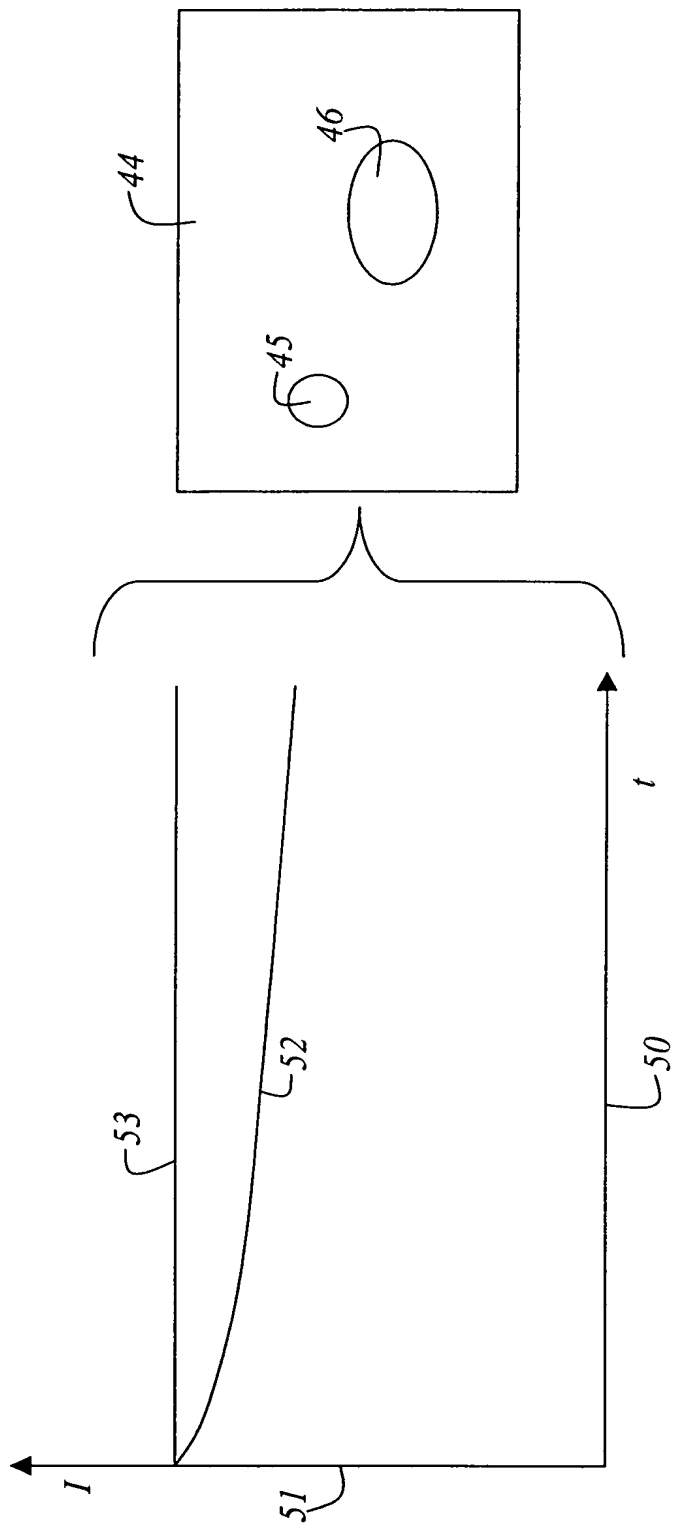


**Fig. 1**

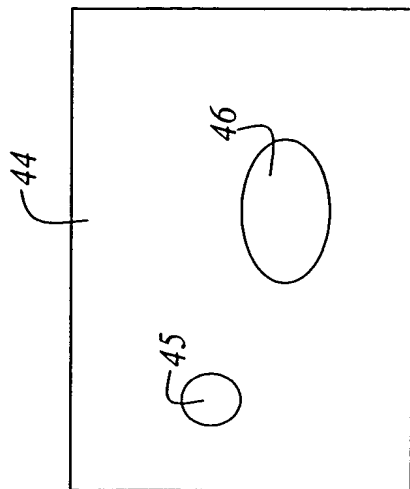
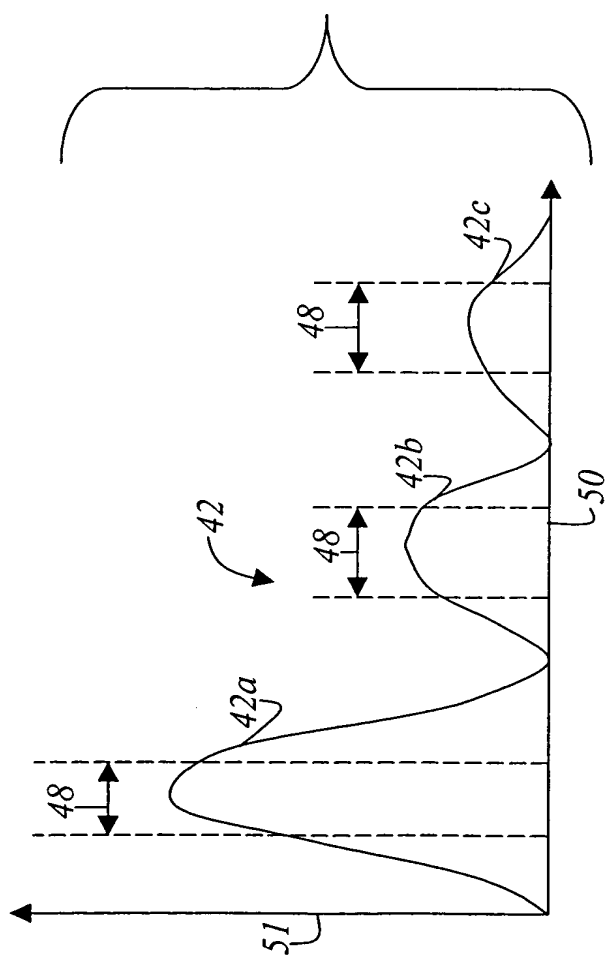




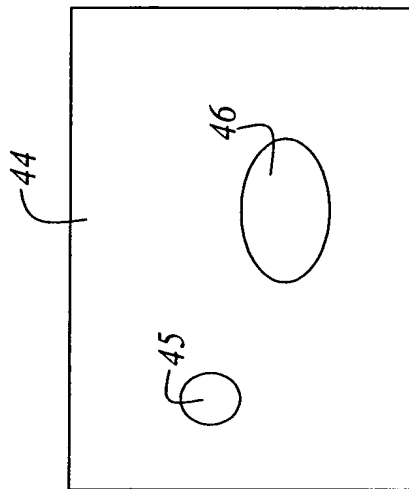
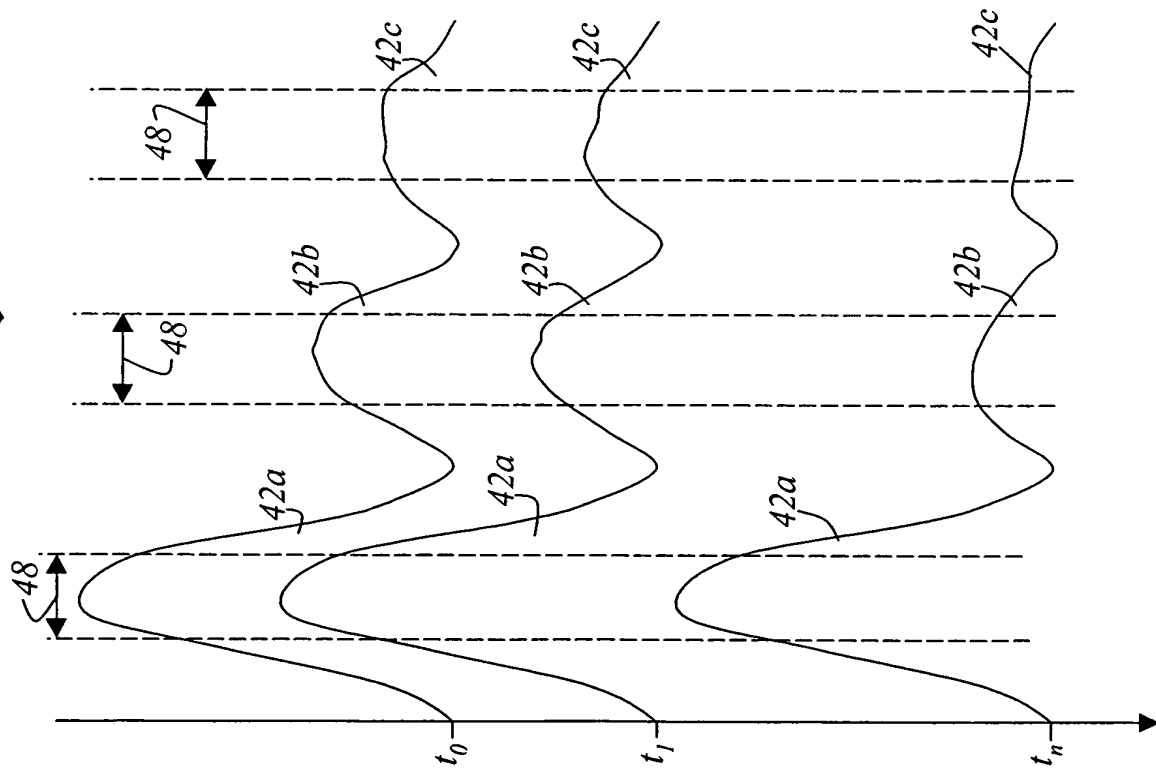
**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**



**Fig. 5**

**Fig. 6**

